



Białowieża, 28.06.2021

## **Recenzja**

### **rozprawy doktorskiej mgr Zofii Korbut Mikołajczyk pt. „Filogeografia i struktura genetyczna populacji chomika europejskiego (*Cricetus cricetus*) na obszarze potencjalnych refugium”**

#### **Uwagi formalne**

Rozprawa doktorska Pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk pt. „Filogeografia i struktura genetyczna populacji chomika europejskiego (*Cricetus cricetus*) na obszarze potencjalnych refugium” została wykonana na Wydziale Biologii Uniwersytetu w Białymstoku pod opieką promotorską Pani dr hab. Agaty Banaszek.

Oceniana rozprawa doktorska jest napisana w języku polskim i ma formę manuskryptu o objętości 174 numerowanych stron. Składa się ona z części ogólnej oraz trzech części opisujących wyodrębnione zagadnienia badawcze. Każda z tych trzech części zawiera wstęp, materiał i metody, wyniki i dyskusję. Pod względem edytorskim manuskrypt rozprawy jest bardzo solidnie opracowany.

#### **Uwagi ogólne - hipotezy**

Oceniana rozprawa doktorska stanowi merytorycznie spójne opracowanie. W obszernym wprowadzeniu Doktorantka szczegółowo opisała tło zagadnień badawczych, którymi zajmowała się w pracy doktorskiej. Głównym tematem jej rozprawy było scharakteryzowanie struktury filogeograficznej oraz genetycznego zróżnicowania populacji chomika europejskiego (*Cricetus cricetus*) na obszarze potencjalnych refugium, które charakteryzują się zwykle wysokim poziomem zmienności genetycznej.

W części I rozprawy Doktorantka przeprowadziła analizy filogeograficzne populacji chomika europejskiego na podstawie trzech różnej długości fragmentów sekwencji mitochondrialnego DNA (mtDNA): regionu kontrolnego (*ctr*), odcinka 16S rRNA (*16S*) oraz cytochromu b (*cytb*).

W części II Doktorantka analizowała cztery sekwencje intronów z jądrowego DNA oraz sześć fragmentów sekwencji zlokalizowanych na chromosomie Y. Analizy te wykonała u osobników chomika z wyróżnionych linii na podstawie sekwencji mtDNA. Doktorantka chciała sprawdzić czy genealogie wyznaczone na podstawie analiz sekwencji mtDNA mają swoje odzwierciedlenie w genealogiach wybranych sekwencji jądrowych, zarówno autosomalnych, jak i sprzężonych z chromosomem Y.

W części III Doktorantka przeprowadziła analizę struktury genetycznej populacji chomika europejskiego w polsko-ukraińskim fragmencie jego zasięgu, na podstawie wybranych 15 loci mikrosatelitarnego DNA. Doktorantka wybrała do analiz ten fragment zasięgu chomika europejskiego, gdyż obszar ten obecnie stanowi duży i ciągły fragment występowania gatunku.

W swoich badaniach Doktorantka wykorzystwała liczne próby (ponad 320) z populacji chomików europejskich z Ukrainy oraz Rumunii, a także w niektórych analizach wykorzystwała dodatkowo próby od osobników pochodzących z terenów Belgii, Niemiec, Francji, Czech, Słowacji i Polski. Część z tych prób była wykorzystana przez Doktorantkę i innych badaczy we wcześniejszych badaniach.

Doktorantka wykonała liczne analizy laboratoryjne wykorzystując szeroki wachlarz metod badawczych oraz opracowała dane genetyczne stosując różnorodne narzędzia/programy statystyczne.

### **Najważniejsze wyniki**

Doktorantka przeprowadziła wieloaspektowe badania i uzyskała cenne wyniki naukowe:

- na podstawie analiz sekwencji trzech fragmentów mtDNA (*ctr*, *16S* i *cytb*) stwierdziła, że z opisanych wcześniej przez innych badaczy pięciu linii mtDNA u chomika europejskiego, jedynie linie Pannonia, Północna i Kaukaska tworzą odrębne linie filogeograficzne;
- wykazała bardzo niski poziom zmienności nukleotydowej haplotypów wybranych markerów zlokalizowanych na chromosomie Y, w całym analizowanym zasięgu gatunku. Ponadto stwierdziła, że rozmieszczenie geograficzne wyróżnionych haplotypów nie odzwierciedlało rozmieszczenia linii filogeograficznych wyznaczonych dla sekwencji mtDNA;
- nie wykryła zmienności wśród linii mtDNA w przypadku czterech wybranych sekwencji intronów jądrowego DNA u chomika europejskiego;

- zidentyfikowała dwa skupienia genetyczne, tożsame z podziałem filogeograficznym na linię Pannonia i Grupę Wschodnią na podstawie analiz 13 loci mikrosatelitarnego DNA u chomika europejskiego. Jednakże otrzymała niską wartość zróżnicowania genetycznego między obiema grupami oraz nie wykryła wyraźnej struktury genetycznej;
- zidentyfikowała siedem skupień genetycznych (dwa należące do linii mtDNA Pannonia i pięć do Grupy Wschodniej) na podstawie analiz loci mikrosatelitarnego DNA oraz sekwencji *ctr* mtDNA;
- nie wykazała obecności migrantów pierwszego pokolenia między izolowanymi w przeszłości grupami filogeograficznymi, ale stwierdziła, że obecnie może dochodzić między nimi do wymiany genów w polsko-ukraińskim fragmencie zasięgu chomika europejskiego.

Doktorantka bardzo wnikliwie zinterpretowała wyniki rozprawy. W dyskusji zaprezentowała rozległą wiedzę w podejmowanym temacie i trafnie przedstawiła uzyskane wyniki w świetle dostępnej wiedzy. Jej argumentacja i wnioskowanie nie budzą zastrzeżeń. Zgadzam się z interpretacją wyników odnośnie ekspansji przestrzennej i demograficznej Grupy Wschodniej chomika europejskiego oraz z sugestią, że obszar Niziny Naddnieprzańskiej prawdopodobnie stanowił refugium dla tej linii. Również wnioski Doktorantki dotyczące ekspansji przestrzennej linii Pannonia wydają się być trafne.

Ważne jest stwierdzenie dotyczące przepływu genów pomiędzy populacjami chomika europejskiego w polsko-ukraińskim fragmencie zasięgu oraz, że efektywna wielkość badanych populacji na tym obszarze nie jest bardzo niska.

### **Uwagi krytyczne**

Doktorantka analizowała liczne próby z dużego obszaru zasięgu chomika europejskiego i uzyskała cenne wyniki dotyczące struktury filogeograficznej oraz genetycznego zróżnicowania populacji u tego gatunku. Jednakże w części nie były to badania nowatorskie, tylko znacząco rozszerzające i uściślające dotychczasową wiedzę w tym temacie. Pomimo tego moja ocena tej rozprawy doktorskiej jest wysoka.

Nie budzi zastrzeżeń poprawność analiz laboratoryjnych wykonanych przez Doktorantkę, właściwy wybór narzędzi/programów statystycznych do analiz danych genetycznych oraz interpretacja wyników. Jednakże wyniki zaprezentowane w Części II odnoszące się do zmienności markerów zlokalizowanych na chromosomie Y oraz sekwencji intronów jądrowego DNA nie w pełni mogą pokazywać poziom rzeczywistego zróżnicowania genetycznego w populacjach chomika

europejskiego. Doktorantka analizowała małą liczbę markerów i uzyskała stosunkowo krótkie fragmenty sekwencji. Wnioskowanie w tej części musi być zatem opatrzone powyższym zastrzeżeniem. Trzeba jednak przyznać, że Doktorantka była tego świadoma i ostrożnie interpretowała uzyskane wyniki w tej części rozprawy. Zapewne pełniejszy obraz zróżnicowania genetycznego badanych populacji chomika europejskiego można by otrzymać w wyniku analizy licznych markerów, rozmieszczonych na wszystkich chromosomach, ale Doktorantka nie miała możliwości zastosowania techniki wielkoprzepustowego sekwencjonowania DNA.

W Części I rozprawy Doktorantka zamieściła wyniki opublikowane w jej współautorskim artykule w 2019 roku: (Korbut Z., Rusin M., Neumann K., Banaszek A. 2019. Filling the gap: the common hamster, *Cricetus cricetus*, phylogeography – a case study of Ukraine as potential refugial area. *Folia Zoologica*, 68(1):48-58). Uważam, że ten układ spełnia formalne wymogi rozprawy doktorskiej. Natomiast w takim przypadku należałoby jasno sprecyzować, że integralną część rozprawy stanowi treść merytoryczna publikacji z 2019 roku, w której Doktorantka jest wiodącym współautorem. Takiego jasnego stwierdzenia nie znalazłem. Co prawda, w kilku miejscach jest odnotowane, że część wyników została opublikowana w pracy Korbut i wsp. (2019), ale sposób prezentowania tych materiałów w rozprawie doktorskiej budzi pewne wątpliwości. Na przykład, na stronie 56 Doktorantka stwierdza, że prawie wszystkie z 40 haplotypów cytochromu b zidentyfikowanych u chomika europejskiego nie były dotychczas opisane w literaturze i jednocześnie cytuje artykuł, w którym opublikowała te haplotypy. Natomiast w nagłówku Tabeli 4 wyraźnie wskazuje, że dane dotyczące tych haplotypów zostały opublikowane. Poza tym brak odnośnika do źródeł w przypadku Rycin 3 i 10, które zostały zaczerpnięte z artykułu Korbut i wsp. (2019) i w niewielkim stopniu zmodyfikowane. Tych nieścisłości można było uniknąć, gdyby wymieniony artykuł stanowił część rozprawy doktorskiej. Dopuszczalne bowiem jest, aby rozprawa doktorska, jako praca pisemna, składała się po części z prac opublikowanych, jak i takich, których wyniki jeszcze nie zostały opublikowane.

## **Podsumowanie**

Rozprawa doktorska Pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk zasługuje na wysoką ocenę, ze względu na jej szeroki zakres tematyczny, solidne opracowanie danych i cenne wyniki naukowe. Poszerza ona istotnie wiedzę o strukturze filogeograficznej oraz genetycznym zróżnicowaniu współczesnych populacji chomika europejskiego. Doktorantka podjęła się realizacji trudnego, wieloaspektowego tematu badawczego i dobrze poradziła sobie z tym zadaniem. Dobrze opanowała warsztat badawczy, zarówno techniki laboratoryjne jak i nowoczesne metody analizy danych genetycznych. Wykazała się

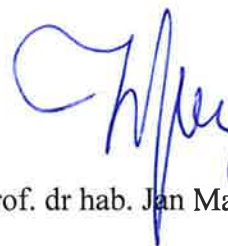
również znajomością analizy danych z zastosowaniem różnych metod statystycznych. Metodyka odnosząca się do poszczególnych części badań została szczegółowo opisana. Należy docenić szczególnie umiejętności Doktorantki w zakresie identyfikacji alleli w loci mikrosatelitarnego DNA. W dyskusji Doktorantka zaprezentowała bardzo dobrą znajomość zagadnień z zakresu biologii ewolucyjnej, genetyki populacyjnej i konserwatorskiej, a także umiejętnie przedstawiła swoje wyniki w świetle dostępnej wiedzy. Uważam, tak jak sugeruje Doktorantka, że wyniki jej rozprawy doktorskiej będzie można wykorzystać w przyszłości przy tworzeniu programu ochrony chomika europejskiego.

Oceniana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje bardzo dobrą ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie biologii oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

### **Wniosek końcowy**

Konkludując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk pt. „Filogeografia i struktura genetyczna populacji chomika europejskiego (*Cricetus cricetus*) na obszarze potencjalnych refugiów” spełnia warunki określone w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Zwracam się zatem do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Jan Marek Wójcik